NEDERLANDSCHE PLANTENZIEKTENKUNDIGE (PHYTOPATHOLOGISCHE) VEREENIGING

TIJDSCHRIFT OVER PLANTENZIEKTEN

ONDER REDACTIE VAN

IR N. VAN POETEREN, PROF. DR W. K. J. ROEPKE EN PROF. DR JOHA WESTERDIJK

42e Jaargang | 9e aflevering | September 1936

DE AARDAPPELSCHURFT EN DE HETEROLYSE DER SCHURFTPARASIET

DOOR

K. T. WIERINGA EN G. L. W. WIEBOLS

Gedurende de laatste twintig jaren zijn de pootaardappelen in toenemende mate een plaats gaan innemen onder onze exportartikelen en thans is de uitvoer zeer aanzienlijk. Voor een zeer belangrijk deel is dit te danken aan onze uitnemend georganiseerde keuringsdiensten, die sedert de oprichting van den Nederlandschen Algemeenen Keuringsdienst tot een hecht geheel zijn vereenigd. In het bijzonder is het hooge peil, waarop onze pootaardappelcultuur staat, toe te schrijven aan de vooraanstaande plaats, die het onderzoek van de virusziekten en de toepassing van de daarbij verkregen resultaten in de practijk in ons land van het begin af hebben ingenomen. Door de wetenschappelijke voorlichting heeft ons land, wat de selectie van pootgoed en de maatregelen tegen de zgn. degeneratieziekten betreft, een vooraanstaande plaats kunnen innemen en dit vond waardeering in het buitenland, waarvan een steeds toenemende vraag naar ons pootgoed het gevolg is geweest.

Ondanks de toenemende moeilijkheden, die tegenwoordig den internationalen handel in den weg worden gelegd, is ook thans nog de pootaardappel een belangrijk exportartikel. [1]) De buitenlandsche voorschriften maken het noodzakelijk, dat ons pootgoed steeds meer aan de uiterste eischen inzake gezondheid moet voldoen. De virusziekten kan men aan de knollen niet waarnemen, vandaar, dat de garantie van afwezigheid voor deze gelegen is in de veldkeuring. Maar ook uiterlijk moeten de knollen gezond zijn en zelfs kan gezegd worden, dat wij eerst ons pootgoed als

[1]) Ir J. SIEBENGA, Landbouwk. Tijdschr., 47e Jaarg., blz. 665.

prima waar kunnen verkoopen en dus in de gelegenheid gesteld worden de innerlijke kwaliteiten, d.w.z. afwezigheid van virusziekten, te bewijzen, als zij vrij zijn van uitwendig waarneembare ziekten, ook al zijn deze overigens niet belangrijk. De zorg aan de selectie besteed moet dus aangevuld worden met zorgen voor het uiterlijk van de knollen en hierbij neemt ongetwijfeld de aardappelschurft, naast de aantasting door Rhizoctonia en in den laatsten tijd ook Alternaria de eerste plaats in. De wratziekte is door strenge contrôle dusdanig in bedwang gehouden, dat haar optreden slechts een geringe uitbreiding heeft gekregen.

De bestrijding van de gewone aardappelschurft is voor de phytopathologen een moeilijk op te lossen probleem. De verwekker van deze ziekte is wat zijn voeding betreft niet erg kieskeurig en kan zeer goed in den grond leven en zich vermenigvuldigen. Ontsmetting van het pootgoed geeft daarom in het geheel geen waarborg, dat het gewas niet door de parasiet wordt aangetast. Zoodra gezonde knollen op een besmet perceel worden uitgeplant zal blijken, dat het gewas in meerdere of mindere mate door schurftverwekkende Actinomyceten wordt aangetast, al naar gelang van de meerdere of mindere vatbaarheid van het ras. De ziekte moet dus op het veld worden bestreden.

De eerste bestrijdingswijze, waaraan men zou kunnen denken, is de grondontsmetting. Inderdaad is deze in den tuinbouw voor verschillende ziekten reeds toegepast en met succes. De kosten, aan grondontsmetting verbonden, zijn echter zoo hoog, dat men er niet aan denken kan deze werkwijze voor de pootaardappelcultuur toe te passen, tenzij eenmalige behandeling voorgoed of voor een lange periode het optreden der ziekte zou verhinderen.

Met andere middelen tracht men den bodem zoodanig te veranderen, dat hij minder geschikt wordt voor den groei der Actinomyceten. Het is bekend, dat de schurft het meest optreedt op kalkrijke gronden. Door deze gronden steeds met zwavelzure ammoniak en superphosphaat te bemesten wordt de uitputting van den kalkvoorraad bespoedigd, terwijl bovendien de reactie van den grond gedurende de vegetatieperiode meer naar den zuren kant wordt verschoven. Uit den aard der zaak kan deze werkwijze slechts langzamerhand tot het gewenschte doel leiden, terwijl gevaar bestaat, dat op den duur een kalktoestand wordt bereikt, die voor de aardappelcultuur gunstig is, maar niet voor andere gewassen.

Ten slotte heeft men opgemerkt, dat bij toevoeging van gemakkelijk aantastbaar organisch materiaal aan den grond in vele gevallen de schurft in minder hevige mate optrad, dan wanneer deze stoffen niet waren toegevoegd. Het eerst werd opge-

merkt, dat onderploegen van groene rogge dikwijls een zeer gunstig resultaat had. Echter zijn ook gevallen bekend, dat deze maatregel weinig effectief was. Bij proeven van Ir P. G. MEYERS bracht toevoegen van stoffen als sojameel en raapmeel een belangrijke verbetering. [1]) Het is nog geheel en al onbekend, hoe men zich de werking van deze stoffen moet verklaren. Wij verwijzen hier naar bovengenoemde publicatie van Ir MEYERS en naar een publicatie van Mej. H. L. G. DE BRUYN [2]) en van Ir T. HUISMAN. [3])

De verklaring, die in den laatsten tijd meer en meer op den voorgrond komt, is die der antagonistische (antibiotische) werking. Ook bij andere ziekten heeft men dezelfde verschijnselen waargenomen, zoo b.v. bij de voetziekte der granen, evenals bij het zgn. wortelrot der katoenplant, waarbij de onderaardsche deelen door schimmels worden aangetast. Het is bekend, dat bij deze ziekte van de katoenplant het onderbrengen van versch plantenmateriaal gunstig werkt. Men meent hier te hebben waargenomen, dat de schimmel *Phymatotrichum omnivorum* teruggedrongen was door de organische bemesting, terwijl bacteriën en Actinomyceten meer op den voorgrond traden. [4]) Dat schimmels door bacteriën kunnen worden aangetast, kan men zeer goed waarnemen met behulp van de door CHOLODNY ingevoerde methode van bodembacteriologisch onderzoek. Objectglazen op een bepaalde wijze in den grond aangebracht, worden na verloop van 1–3 weken overgroeid met de microflora, die voor de grondsoort typisch is. Deze flora bestaat uit schimmels, bacteriën en actinomyceten. Wanneer men de glaasjes lang genoeg in den grond laat zitten, kan men waarnemen, dat de schimmeldraden dicht met bacteriën bezet worden en dan tenslotte geheel te gronde gaan. Wanneer men nu door toevoegen van organisch materiaal het biologisch overwicht heeft verschoven, kan men zich voorstellen, dat deze agressieve bacteriën zich sterker ontwikkelen en de plantenparasiet opruimen. Evengoed kan men zich echter indenken, dat de verdringing op een meer vreedzame wijze plaats vindt in den vorm van een „*pénétration pacifique*", een verschijnsel, dat men eveneens waarneemt na de partieele sterilisatie van den grond door verwarming of met antiseptica. Dit laatste werd reeds in 1903 waargenomen door HILTNER en STÖRMER. [5]) Het bleek, dat bij de behandeling van den grond met

[1]) Landbouwk. Tijdschr., 47e Jrg, blz. 643.
[2]) Landbouwk. Tijdschr., 47e Jrg, blz. 635.
[3]) Tijdschrift over Plantenziekten 1933, blz. 173.
[4]) KING en HOPE, Journ. of Agr. Res., 1934, Bd. 49.
[5]) Arb. Biol. Abt. Land- u. Forstw. K. Gesundheitsamt, 3, 1903.

CS_2 aanvankelijk alle microörganismen zeer belangrijk in aantal verminderden, maar reeds na enkele weken kwam een geweldige opbloei van de microflora. De oorspronkelijke verhouding tusschen Actinomyceten en bacteriën werd echter niet hersteld. Die organismen, die onder de gegeven omstandigheden de gunstigste voorwaarden aantreffen, winnen het pleit. In dit geval zijn het de bacteriën. De oorspronkelijke verhouding is na een jaar nog niet hersteld.

Een ander soort antagonisme neemt men dikwijls waar op kunstmatige voedingsbodems, wanneer een microörganisme stoffen vormt, die schadelijk zijn voor andere microben. Indien een bouillon-agar plaat met 2 % glucose, dicht met een Actinomycescultuur bezaaid, eenigen tijd open aan de lucht staat, vallen meestal wel bacteriën of hun sporen op den voedingsbodem neer, die zich daarna tot koloniën ontwikkelen en in hun omgeving den groei van de Actinomyces zoodanig remmen, dat de oppervlakte van de agar hier geheel schoon blijft. Dit kan veroorzaakt worden, doordat de bacterie zuur vormt uit de glucose. Ook in den grond is een dergelijk antagonisme te verwachten, wanneer men koolhydraten aan den grond toevoegt.

Wil men daarentegen den meer agressieven vorm van antagonisme kweeken, dan doet men beter de actinomyces zeer dicht uit te zaaien op een armeren voedingsbodem, vrij van koolhydraat, of slechts een geringe hoeveelheid suiker bevattende. Hierop strooit men dan een zeer geringe hoeveelheid uiterst fijn verdeelde grond uit. Aanvankelijk ziet men nu een tamelijk snelle ontwikkeling van de Actinomyceten met enkele infecties. Na enkele dagen neemt men echter grootere en kleinere kolonies waar, waaromheen de Actinomyces is opgelost. Deze oplossingsvelden breiden zich de volgende dagen nog sterk uit (foto 1, foto 2 en 3 en foto 4). De verschijnselen zijn geheel identiek aan die, welke door Söhngen bij bacteriën zijn beschreven en als *heterobacteriolyse* zijn aangeduid. Specifiek heterolytische bacteriën zijn die, welke slechts van andere bacteriën kunnen leven. [1]) Evenals bij de bacteriën nemen we dus heterolyse bij de Actinomycten waar.

Hiermee is echter het antagonisme bij de Actinomyceten niet uitgeput. Door Wiebols en Wieringa [2]) werd in 1935 de vraag

---

[1]) N. L. Söhngen, Heterobacteriolyse en Bacteriophagie, Kon. Akad. v. Wet., Dl XXXVI, no 10; N. L. Söhngen, Over het wezen van den bacteriophaag, Rede 11e verjaardag Landbouwhoogeschool 1929, Veenman & Zonen.

[2]) Bacteriophagie, een algemeen voorkomend verschijnsel. Publ. no 16 van de Stichting „Fonds Landbouw Export Bureau".

gesteld of het verschijnsel der bacteriophagie zich tot de bacteriën beperkt. Ofschoon het wel zeer voor de hand ligt, dat reeds vroeger getracht werd voor andere microörganismen phagen te isoleeren, vindt men in de literatuur hierover geen aanwijzingen.

Gezien de zeer groote beteekenis, die de actinomyceten hebben voor de landbouwkunde, was het van belang deze microörganismen ook in dit opzicht te bestudeeren. Het is bekend, dat deze groep van organismen een zeer belangrijk aandeel heeft in de mineralisatie van de organische stof in den bodem. Aan den anderen kant staat het parasitisme van sommige vertegenwoordigers van de Actinomyceten. Niet alleen bij de plant, maar ook bij mensch en dier komen Actinomycosen voor, die zeer moeilijk te bestrijden zijn.

Het onderzoek om op deze organismen een phaag te kweeken werd aangevangen met een bodemactinomyces, vermoedelijk *Act.roseus*. Reeds spoedig hadden onze pogingen succes. Met de bij de bacteriophagie gebruikelijke werkwijze werd een filtreerbaar en overentbaar agens gevonden, dat in staat bleek deze Actinomyces op te lossen. Een jonge Actinomyces-cultuur in bouillon werd met grond geënt en bij 24° C weggezet. Na verloop van eenigen tijd werd deze cultuur door een filterkaars (L 13) gefiltreerd en $\frac{1}{2}$ cm^3 van het filtraat aan een nieuwe jonge reincultuur toegevoegd. Als contrôle diende een cultuur, waaraan geen filtraat was toegevoegd. Reeds na enkele dagen was het verschil tusschen de beide culturen duidelijk waarneembaar. Terwijl de contrôle normaal doorgroeide, had de cultuur met het filtraat zich niet ontwikkeld, maar was een heldere vloeistof geworden, waarin slechts enkele vlokjes dreven. Bij voortgezette filtratie werd het verschil steeds duidelijker. Ook op bouillon-agar platen kan men de aanwezigheid van de phaag demonstreeren. Op een vleesch-agar plaat zaait men de actinomyces zeer dicht uit, zoodat in korten tijd de geheele plaat met een gesloten Actinomycesdek overtrokken is. Tegelijkertijd wordt een zeer geringe hoeveelheid van het lytische agens op de plaat uitgestreken. In het Actinomycesdek ontstaan nu gaatjes op de plaatsen, waar de phaag terecht komt. Op deze plaatsen is de Actinomyces opgelost en heeft de phaag zich ontwikkeld. Deze heldere plekjes, — de plages — zijn geheel vergelijkbaar met koloniën. Met de entnaald kan men hiervan af de phaag overenten.

Nu werd getracht met deze phaag ook de Actinomyces van de aardappelschurft op te lossen. Een aantal stammen van schurftverwekkende Actinomyceten werd ons welwillend verstrekt door Mej. H. L. G. de Bruyn (Laboratorium voor Myco-

logie en Aardappelonderzoek te Wageningen). Onze phaag was echter in het minst niet virulent voor deze Actinomyceten. Ook directe isolaties uit den grond mislukten.

Met meer succes werd in het voorjaar 1936 getracht een phaag te kweeken voor *Act.bovis* (Harz) en *Act.farcinicus* (culturen verstrekt door het Centraal Bureau voor Schimmelcultures te Baarn). Reeds spoedig werden zeer virulente phagen verkregen, die zoowel in de vloeistof als op de plaat de typische verschijnselen te zien gaven. Toen nu de schurftverwekkende Actinomyces-stammen met deze phagen werden geënt, bleek het, dat de phaag van *Act.bovis* ook deze zeer gemakkelijk kon oplossen en de plages kon ontwikkelen op de agar-plaat (foto 5). Deze phaag is tevens virulent voor de *Act.farcinicus*. Wij hebben hier dus een phaag geïsoleerd, die zeer uiteenloopende stammen van Actinomyceten kan aantasten. Het is derhalve niet onmogelijk, dat deze polyvalente phaag waarde zal blijken te hebben voor de bestrijding van de aardappelschurft. Nadere proeven zullen dit moeten uitmaken.

Resumeerende kunnen we het biologisch antagonisme, waardoor de ontwikkeling der Actinomyceten in den grond wordt beperkt, als volgt indeelen:

I. *Passief antagonisme.*
   a antagonisme door concurrentie met andere microben,
   b antagonisme door vorming van groeibelemmerende stoffen.

II. *Actief antagonisme.*
   a antagonisme door heterolytisch werkende microben,
   b antagonisme door filtreerbare en overentbare agentia (phagen).

Nader onderzoek zal moeten uitwijzen of het antagonisme in een dezer vormen mogelijkheden biedt voor de bestrijding van de aardappelschurft.

4 Juni 1936. *Laboratorium voor Microbiologie, Wageningen.*

VERKLARING VAN PLAAT XIX

Fig. 1. Oplossingsvelden in een Actinomycescultuur op vleeschagar, waarop gronddeeltjes zijn uitgezaaid.
„ 2. Als fig 1.
„ 3. Dezelfde cultuur als fig. 2, maar 1 dag later gefotografeerd.
„ 4. Reinculturen van bacteriën geïsoleerd van platen als op voorgaande fotografieën en daarna afgestreken op een Actinomycescultuur. Op deze plaat veroorzaken de bacteriën no 1 en 2 een groeibelemmering, terwijl de nos 4 en 5 de Actinomycescultuur oplossen.
„ 5. Plages van den phaag van *Actinomyces bovis* op een cultuur van een schurftverwekkende actinomyces.
Alle fotografieën zijn genomen bij doorvallend licht op $^1/_2$ van de ware grootte.

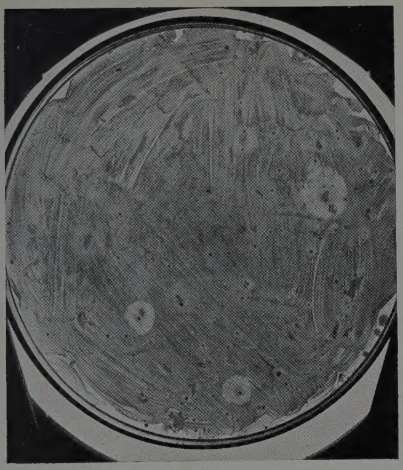

Fig. 1

Fig. 2

Fig. 5

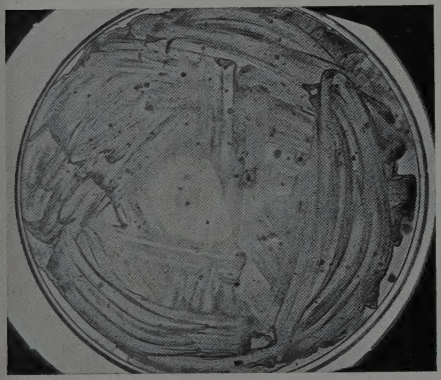

Fig. 3

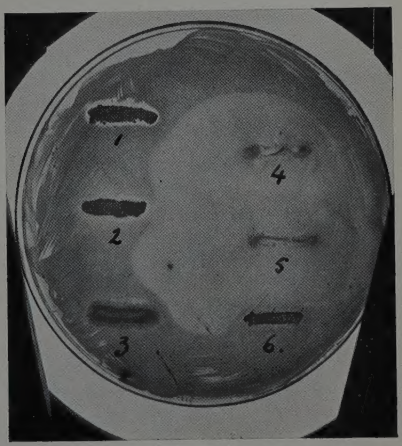

Fig. 4

BESTAAT ER EEN VERBAND TUSSCHEN HET VOORKOMEN VAN BLACK HEART EN HET OPTREDEN VAN VIRUSZIEKTEN BIJ DEN AARDAPPEL?

DOES A CAUSAL RELATION EXIST BETWEEN THE OCCURRENCE OF BLACK HEART, AND OF VIRUS DISEASES OF THE POTATO?

DOOR

A. A. SWARTELE l.i. (Leuven).

In 1928—1931 publiceerden BIOURGE en SOKAL een reeks proeven, waaruit zij tot een positieve correlatie tusschen het optreden van „black heart" en de aanwezigheid van verschillende aardappelviren meenden te mogen besluiten. Black heart, zoowel als de „z.g. virusziekten", werden door hen aan een en den zelfden oorzaak toegeschreven, en wel aan de werking van Bacillus mesentericus vulgatus (FLUGGE) en Bacillus mesentericus ruber (GOBIG).

Zij gingen als volgt te werk: uitwendig zorgvuldig gesteriliseerde aardappelknollen werden gedurende 48 uur blootgesteld aan een temperatuur van 42° C., en na afkoeling op steriele wijze gesneden. De knolhelften werden in sterielen grond uitgepoot, nadat eventueele verkleuringen genoteerd waren. In 't algemeen werd vastgesteld, dat planten, die gegroeid waren uit knollen, die na verwarming een normaal gezond aanzien hadden, ook verder ziektevrij opgroeiden. In tegenstelling hiermede gaven de knollen, die black heart of rottingen vertoonden na de verwarming, planten, die allerlei ziekteverschijnselen vertoonden. Deze verschijnselen werden door de auteurs als virusziekten beschouwd. Uit de zwarte of rottende knollen isoleerden zij ook in sommige gevallen de bovengenoemde bacteriën. Het pathogeen karakter van deze stam werd door herhaalde cultuur bij 42° C. opgewekt of versterkt, waarna inoculatie van de virulente bacteriën op gezonde planten ook de z.g. virusziekten te weeg bracht. Hieruit besloten de auteurs dan tot een oorzakelijk verband tusschen de aanwezigheid van Bacillus mesentericus spec., het optreden van black heart in den knol en de z.g. virusziekten in het gewas.

Zij beschrijven dan ook een eenvoudige methode om aan de

knollen de gezondheidstoestand van den aardappel te bepalen: knollen, die na verwarming zwart worden, dus door Bacillus ruber aangetast zijn, zouden later op het veld, „viruszieke" planten geven. Volgens hen is het virusbegrip dus, tenminste wat betreft de aardappel, overbodig, en het vervalt.

Hierbij zij nog opgemerkt, dat ook zwartbeenigheid en blauwworden van den aardappel, door deze auteurs, aan de aanwezigheid van dezelfde bacillen wordt toegeschreven.

Reeds een nadere beschouwing van de hiervermelde publicaties doet sommige fouten ontdekken in de proefnemingen en vermindert in hooge mate de waarde van de daaruit getrokken besluiten. Maar het feit, dat deze studiën in sommige kringen weerklank vonden, en ook, dat in het gezonde en viruszieke materiaal, door SCHULZE en TOLAAS gestuurd, een sterke positieve correlatie bleek te bestaan tusschen het optreden van black heart en het voorkomen van de virusbesmetting, hebben er ons toe aangezet, enkele proefnemingen ter contrôle, te nemen.

Een eerste oriënteerende proef werd als volgt aangelegd:

550 knollen, werden uitwendig gesteriliseerd en geheel volgens de methode Biourge-Sokal behandeld. De aanwezige verkleuringen werden genoteerd en de twee helften op verschillende plaatsen uitgeplant. De eene reeks helften kwam op een zonnige en beschutte plaats onder een rij perzikboomen, waar veel Myzus persicae op voorkwam, omstandigheden, die de verspreiding van het virus in de hand werkten. De andere reeks stond ver van alle infectiebronnen midden in een veld bieten.

De eerste reeks gaf 313 zieke planten, 180 gezonde en 74 waarvan de gezondheidstoestand niet met zekerheid kon worden vastgesteld. Voor de tweede reeks zijn deze cijfers respectievelijk 122, 354 en 57.

Onder ziek verstaan wij hier bladrol- of mozaiekziek; het is ons helaas niet mogelijk de verhouding bladrol : mozaiek aan te geven, omdat de desbetreffende nota's zijn verloren gegaan.

Dit eerste resultaat bewees reeds dat, zelfs indien er een verband bestond tusschen het zwart-worden na verwarming en de virusaantasting, de omstandigheden te velde in veel belangrijker mate het aantal zieke planten beinvloeden.

Een tweede reeks proeven werd meer in detail uitgevoerd gedurende twee opeenvolgende jaren.

Eerste proef

Aardappelen variëteit Industrie, rechtstreeks uit Holland geïmporteerd. In 1932 verwarmd volgens B. en S. bleven alle knollen gezond: zij vertoonden dus geen enkele verkleuring.

24 knollen van den oogst, die de hieruit opgegroeide planten leverden, werden in 1933 verwarmd: 6 vertoonden black heart, 18 bleven normaal.

De 6 verkleurde knollen werden uitgeplant en gaven 5 gezonde planten en een bladrolzieke.

6 normale knollen gaven 6 gezonde planten.

Tweede proef

Hollandsche Industrie. In 1932 verwarmd volgens B. en S.: 66% der knollen vertoonden zwartkleuring.

In 1933: 43 knollen, voortkomende van planten afkomstig van gave knollen van oogst 1932, verwarmd.

25 vertoonden black heart, 18 bleven normaal.

23 der zieke knollen gaven na uitplanting: 14 gezonde, 6 bladrolzieke en 3 mozaiekzieke planten.

8 normale knollen: 4 gezonde, 4 bladrolzieke en 0 mozaiekzieke planten.

Derde proef

Hollandsche Industrie. Zelfde partij als II, plus een gedeelte knollen van de eerste partij.

25 knollen verwarmd: 15 black heart en 10 normaal.

13 zieke uitgeplant: 11 gezonde en 2 mozaiekzieke planten.

7 normale uitgeplant: 6 gezonde en 1 mozaiekzieke planten.

Vierde proef

Zelfde partij knollen als derde proef.

57 knollen verwarmd: 35 black heart en 22 normaal.

26 uitgeplant gaven 13 gezonde, 6 bladrolzieke, 6 mozaiekzieke planten.

13 normale uitgeplant: 7 gezonde, 5 bladrolzieke, 1 mozaiekzieke planten.

Vijfde proef

Industrie, afkomstig uit het laboratorium voor plantenveredeling van den Belg. Boerenbond.

a. 10 knollen voortkomend van gezonde planten.

b. 10 knollen voortkomend van mozaiekzieke planten.

c. 10 knollen van onbekenden oorsprong.

Bij verwarming kregen wij de volgende resultaten:
a. 9 black heart knollen en 1 gezonde.
b. 10 black heart knollen.
c. 7 black heart knollen en drie normale.
Uitgeplant gaven de 20 halve knollen van:
a. 20 gezonde planten.
b. 20 mozaiekzieke planten.
c. 12 gezonde en 8 mozaiekzieke planten.

Zesde proef

25 Eigenheimer knollen werden verwarmd: 20 vertoonden black heart en 5 bleven normaal.
Uit de 10 gave helften groeiden 8 gezonde en 2 mozaiekzieke struiken. Uit de 40 zieke helften groeiden 40 gezonde planten.

Als we de resultaten van deze proefnemingen samenvatten, komen we tot het besluit, dat knollen, die na verwarming black heart vertoonen, op het veld geen hooger ziekteprocent geven dan die welke normaal bleven.
De verhouding van de gezonde, tot het totaal der behandelde knollen is:

in proef 1.	*a.* black heart knollen . . .	5/6
	b. normale knollen	6/6
in proef 2.	*a.*	14/23
	b.	4/8
in proef 3.	*a.*	11/13
	b.	6/7
in proef 4.	*a.*	13/26
	b.	7/13

Om nu te bewijzen, dat black heart en virusziekte twee verschijnselen zijn, die onafhankelijk van elkaar optreden, hebben wij, behalve de bovenvermelde proeven, ook nog de volgende experimenten opgezet, die we zullen noemen:

PROEVEN OVER HET ZIEKTEBEELD

A. *Bladrol.*
Wij hebben van verschillende rassen, in 1932, typisch bladrolzieke planten uitgekozen. In 1933 werden de geoogste knollen behandeld volgens de methode Biourge en Sokal, en weer uitgepoot.

Soort	Nummer	Totaal aantal knollen	Aantal knollen, dat na verwarming	
			black heart vertoonde	normaal bleef
Eersteling	391–1	2	2	0
Majestic	407–1	4	2	2
Bintje	408–1	3	2	1
	408–5	6	6	0
	409–1	3	1	2
	409–2	3	1	2
Eigenheimer	420–1	5	5	0
	421–1	2	1	1
Od. Blaue	433–1	2	0	2
	433–2	2	0	2
	426–1	4	2	2
	437–1	3	2	1
Roode Star	443–1	3	2	1
Colombus	449–1	3	3	0
	460–1	3	1	2
Industrie	467–2	3	1	2
	468–1	2	1	1

Na de behandeling bij 42° C., vertoonden 32 van de 53 knollen, black-heart en 23 bleven geheel normaal, alhoewel al de behandelde knollen het bladrolvirus bevatten. Dit werd ten overvloede bewezen door de nateelt: alle planten uit de 53 knollen gegroeid, waren secondair bladrolziek.

B. *Mozaiek.*

Op de zelfde manier behandelden wij knollen, voortkomend van mozaiekzieke planten:

Soort	Nummer	Totaal aantal knollen	Aantal knollen, dat na verwarming	
			black heart vertoonde	normaal bleef
Od. Blaue	425–1	3	2	1
	454–1	4	1	3
Bevelander	447–1	2	0	2
Erdgold	450–1	6	0	6
	450–2	3	2	1
Gisevius	466–1	5	0	5
Industrie	468–2	3	1	2

Dus op 26 knollen bleven er 20 normaal na verwarming. Nochthans kwamen zij allen voort van mozaiekzieke planten, en gaven zij in de nateelt ook mozaiekzieke planten.

Als contrôle hebben we dan nog gezonde knollen van de volgende variëteiten behandeld: Bintje, Odenwalder Blaue, Roode Star en Industrie.

Op de 25 behandelde knollen waren er 10, die black heart vertoonden. Nochthans groeiden uit al deze knollen normaal gezonde planten, behalve 5 gevallen van primaire aantasting.

INOCULATIEPROEVEN

Uit knollen, die zwart geworden waren na verwarming, bekwamen wij een gemengde bacteriëncultuur. Deze werd gedurende enkele dagen vermeerderd op gewone vleeschbouillon, bij 24° C.

Als dan werden de volgende inoculaties verricht:

In een veldje, waar slechts gezonde knollen gepoot waren, werden 18 planten uitgekozen. Een Pasteurpipet werd met $\frac{1}{2}$ cm^3 bacteriënsuspensie gevuld en dan in een oksel van den hoofdstam gestoken. Gedurende 3 weken vertoonden de planten niet het minste symptoom. Toen openbaarden zich lichte K-gebrek-verschijnselen, waardoor eventueele verkleuringen moeilijk te bemerken zouden geweest zijn. Maar steeds bleven de geïnoculeerde planten van een gelijk uiterlijk als de niet behandelde.

Wij hebben dan deze proef herhaald op 40 gezonde planten, nateelt van gezonde knollen, die ook bij 42° C. normaal waren gebleven. Nooit werd een enkel ziektesymptoom waargenomen.

BESLUIT

Uit al deze proeven blijkt, dat er tusschen black heart en virusaantasting geen oorzakelijk verband bestaat, en dat de methode Biourge en Sokal geen enkele nuttige aanduiding geeft om de gezonde van de door virus-besmette knollen te onderscheiden.

In aansluiting met de boven vermelde proeven willen wij nog enkele gegevens over het voorkomen van black heart mededeelen, waaruit zal blijken, dat de gevoeligheid hiervoor voornamelijk door de groeiomstandigheden wordt bepaald. Wij zouden kunnen spreken van een sterk modificeerbare eigenschap.

Als wij daarnaast zien, dat het virus steeds met den knol overgaat, dan blijkt nogmaals hoe deze twee verschijnselen typisch van elkaar verschillen.

Het is ten andere vrijwel zeker, dat black heart van zuiver physiologische oorsprong is. Het werd voor het eerst beschreven door Ziegenbein en bestudeert door Bartholomew, die tot

het besluit kwam dat, tengevolge van een sterke verhitting, de ademhaling der knollen sterk stijgt, terwijl de doordringbaarheid van het knolvleesch voor de zuurstof niet in de zelfde mate vermeerdert. Aldus ontstaat er in het centrale gedeelte van de knol een zuurstof-gebrek, gevolgd door verstikking. Deze resultaten werden bevestigd door BENNETT and BARTHOLOMEW, MANN and JOSHI, DAVIS, e.a. STEWART and MIX, die bewezen, dat hier werkelijk verstikking voorkomt, en de hooge temperatuur slechts middellijk het ziektebeeld verwekt. Dit blijkt nogmaals uit de studie van BRAUN, die vermeld, dat knollen, die gedurende 60 dagen in het luchtledige bij 12° C. waren bewaard, black heart vertoonden.

Het is lang bekend dat bacteriën ook zwarte verkleuringen en rottingen in den knol kunnen te weeg brengen. (VAN HALL, SWELLENGREBEL, e.a.). Maar dat deze bacteriën bij black heart geen rol spelen staat vrijwel vast.

Verscheidene Britsch-Indische onderzoekers hebben een oogenblik gemeend dat black heart identiek zou zijn met „heat rot" d.i. een wegrotten van den aardappelknol nadat hij aan hooge temperaturen was blootgesteld. Maar spoedig hebben zij deze meening herroepen en definitief bewezen dat naast heat rot ook het echte blackheart kan optreden, dat van zuiver physiologischen oorsprong is, en waar bacteriën geen of slechts een secondaire rol spelen. (AJREKAR, MANN and NAGPURKAR).

Na dit beknopte overzicht kunnen we overgaan tot onze eigen proeven. Zij werden alle genomen met Industrie. Acht stammen, die in 1930 te Leuven geselecteerd waren, werden in 1931 in vier verschillende plaatsen nageteeld: te Heverlee, te Bokrijk (Limburg, zandgrond), te Oostkerke (polder) en te Isle le Pré (Ardennen, leemgrond). In 1932 kwamen deze aardappelen weer in vergelijking te Heverlee. Van ieder der vier herkomsten beschikte ik over acht nummers, die gedeeltelijk vroeg en gedeeltelijk laat gerooid waren.

Van ieder nummer heb ik 20 knollen verwarmd (10 vroege- en 10 late rooi) gedurende 48 uur bij 107° F., en ze dan op black heart onderzocht.

Nummer	Vroege rooi		Late rooi	
	normaal	black heart	normaal	black heart
	Herkomst: Oostkerke.			
1	6	4	6	4
2	9	1	4	6
3	4	6	1	9
4	7	3	3	7
5	7	3	8	2
6	10	0	7	3
7	8	2	6	4
8	4	6	6	4
	Herkomst: Isle le Pré.			
33	1	9	0	10
34	3	7	0	10
35	7	3	1	9
36	7	3	1	9
37	8	2	0	10
38	3	7	0	10
39	6	4	0	10
40	5	5	1	9
	Herkomst: Heverlee.			
18	7	3	3	7
19	3	7	4	6
20	5	5	6	4
21	5	5	0	10
22	8	2	1	9
23	8	2	0	10
24	8	2	1	9
30	8	2	2	8
	Herkomst: Bokrijk.			
9	0	10		
10	0	10		
11	0	10		
12	2	8		
13	1	9		
14	2	8		
15	3	7		
16	0	10		

Deze cijfers schijnen er op te wijzen, dat:

ten eerste: de teelt op arme gronden knollen levert, die zeer gevoelig zijn voor black heart.

ten tweede: dat bij late rooi black heart gemakkelijker optreed.

Maar de cijfers van 1933 bewijzen ons, dat nog andere factoren hier in het spel zijn.

Een gedeelte van den oogst van 1932 werd uitgeplant te St.

Niklaas (humusrijke zandgrond) en de nieuwe oogst werd eveneens op gevoeligheid voor black heart onderzocht.

Zie hier de verhouding black heart knollen tot het totaal der behandelde knollen in

Stamnummer	in 1932:	in 1933:
H. 18-V [1]	7/10	0/47
H. 19-V	3/10	0/64
H. 20-V	5/10	0/25
H. 30-V	8/10	0/48
O. 1-V	6/10	0/21
O. 2-V	7/10	0/54
I. 33-V	9/10	0/61
I. 35-L	9/10	1/64
I. 37-L	10/10	0/48
I. 40-L	9/10	0/48

Wij hadden verwacht, dat op dezen zandgrond de gevoeligheid voor black heart groot zou zijn, hetgeen heelemaal niet het geval is. Misschien is dit wel een gevolg van de buitengewoon goede structuur van dezen grond. Ter vergelijking onderzochten wij enkele knollen op zware polderklei geteeld: de eerste stam gaf 72% black heart, de tweede gaf 76%. Hieruit volgt dus, dat de sensibiliteit ten opzichte van black-heart-vorming een eigenschap is die niet met de knol overgaat, maar wel in hooge mate door uitwendige, nog onbekende, factoren wordt beheerscht.

Ten laatste hebben wij getracht langs chemischen weg de gevoeligheid voor black heart te bepalen. Daartoe werd het geraspte knolvleesch gedurende 24 uur bij 40° C. gehouden, nadat de pH op 5,1 was gebracht. In deze voorwaarden werd de maximale hoeveelheid melanine gevormd, die dan getriteerd werd met $KMnO_4$ volgens de methode van Haehn, op de volgende manier gewijzigd: het knolmoes werd gedurende 20 minuten gecentrifugeerd om zetmeel en dergelijke te verwijderen. De bovenstaande vloeistof werd afgeheveld, met 2,5% ijsazijn gekookt en gefiltreerd. Aan het filtraat werd 10 cm^3 H_2SO_4 10% toegevoegd en warm getitreerd met $KMnO_4$ 0, 1 n tot de purpere kleur 10 minuten bleef bestaan.

Als voorbeeld geven wij hier de cijfers voor de boven vermelde nummers:

Aantal cm^3 $KMnO_4$ 0, 1 n noodig om het melanine gevormd in 50 g. knolvleesch te verbranden (alle knollen werden individueel onderzocht; wij geven hier voor elk nummer de breedte van de variatiekurve).

[1] H. 18-V wil zeggen: Heverlee stam 18, vroege rooi, zie de vorige tafel.

H. 18-V	van	17,9	tot	18,4
H. 19-V	„	15,5	„	16,0
H. 30-V	„	21,1	„	21,5
O. 1-V	„	17,3	„	23,1
O. 2-V	„	18,2	„	24,7
I. 33-V	„	16,8	„	17,1
I. 35-L	„	16,4	„	16,8
I. 37-L	„	18,4	„	18,8
I. 40-L	„	18,2	„	24,9

Voorloopig kunnen wij uit deze cijfers besluiten dat de potentieele melaninevorming geen aanduiding geeft nopens de gevoeligheid voor black heart. Eigenaardig is het feit, dat de knollen van oorsprong Oostkerke O. 1 en O. 2 belangrijke verschillen te zien geven, terwijl de andere nummers (behalve dan I. 40) weinig van elkaar verschillen.

Wij hadden gehoopt deze studie nog verder te kunnen doorzetten, hetgeen echter tot nog toe niet is gebeurd. De gedachte, dat deze gegevens wellicht niet geheel van belang zijn ontbloot, hebben er ons toe aangezet ze toch te publiceeren, al zijn zij zeer fragmentarisch en al bieden zij geen oplossing voor het onderzochte vraagstuk.

Ten slotte nog een woord van oprechten dank aan Prof. A. Dumon, directeur van het laboratorium voor toegepaste genetica en van het Station voor Plantenveredeling. Al het door mij gebruikte materiaal was van hem afkomstig en door stamselectie voor deze proeven voorbereid. Dank ook aan het personeel van het laboratorium, dat mij steeds zeer welwillend geholpen heeft bij het doorvoeren van deze proef. Aan Prof. H. M. Quanjer en Mej. H. de Bruyn mijn hartelijken dank voor het nalezen van het manuscript.

KORTE INHOUD

De Schrijver heeft de besluiten van Biourge en Sokal aan een nader onderzoek onderworpen. Deze auteurs waren tot de volgende conclusies gekomen:

ten eerste: black heart in den aardappelknol wordt niet veroorzaakt door een zuurstofgebrek, met daaropvolgende verstikking van het centrale gedeelte van de knol, maar is een gevolg van de aantasting door Bacillus mesentericus vulgates (Flugge) en voornamelijk door Bacillus mesentericus ruber (Globig).

ten tweede: Als men knollen, lijdende aan black heart, uitplant, groeien daaruit planten, die dezelfde ziekteverschijnselen vertoonen als die, welke tot nog toe aan de zgn. „viri" werden toegeschreven. Het is volgens hen dus niet meer noodig, het bestaan van deze „viri" te aanvaarden. Zij verklaren, dat de

zgn. virusziekten veroorzaakt worden door de bovengenoemde bacillen. Om gezonde oogsten te bekomen is het, volgens hen, dan ook voldoende, de pootaardappelen gedurende 48 uur bij 42° C. te verwarmen, en dan alleen die knollen uit te pooten die inwendig geen zwarte verkleuring vertoonen.

Vooral de, onder ten tweede, vermelde gegevens zijn experimenteel onderzocht, en het is de schrijver dezes, niet gelukt eenig verband te ontdekken tusschen het optreden van black heart in den knol en het voorkomen van virusziekten in de plant. Aan de boven beschreven gezondheidstest kan dan ook geen waarde worden toegekend.

Verder worden nog enkele gegevens verstrekt over de omstandigheden, die de vatbaarheid voor black heart, bij den aardappelknol beïnvloeden. Het klimaat, en voornamelijk de bodem, spelen hier een grootere rol dan de erfelijke of chemische constitutie van den knol.

Ten laatste is getracht, een correlatie te vinden tusschen de maximale hoeveelheid melanine, die kan gevormd worden (het zgn. melaninegetal, volgens Haehn) en de intensiteit der black heart-verschijnselen. Voorloopig is er geen duidelijke conclusie uit de bekomen cijfers te trekken.

SUMMARY: DOES A CAUSAL RELATION EXIST BETWEEN THE OCCURRENCE OF BLACK HEART, AND OF VIRUSDISEASES OF THE POTATO?

Biourge and Sokal have claimed:

firstly: Black heart is not caused by lack of oxygen, followed by suffocation of central part of the tuber, but it results from attack by *Bacillus mesentericus vulgatus*; Flugge) and *Bacillus mesentericus ruber* (Globig);

secondly: Tubers suffering from black heart develop plants suffering from the diseases, which have been ascribed to viruses. Therefore it is not necessary to suppose the existance of viruses. This type of disease is caused by the bacilli mentioned. Sanitation of the plants can be performed by keeping the tubers during 48 hours at 42 centigrades. The tubers withstanding this heating without turning black develop virus-free plants.

The present author however has, in controlling experimentally the work of the writers mentioned above, not been able to detect any relation between the occurrence of black heart in the tubers and of viroses in the sprouts.

Sensibility for black heart proved to be more dependent on

the climate and the soil, than on hereditary characters of the potato variety.

Between the melanine-value (as aimed by HAEHN) and the intensity of black heart, thus far no correlation has been found by the present author.

VERKLARING VAN PLAAT XX

Fig. 1. Aardappelen in verschillende mate door black heart aangetast.
„ 2. Inoculatie van een plant op het veld met bouillonkultuur van aardappelbakterien.

EXPLANATION OF PLATE XX

Fig. 1. Different stades of black heart in potato tubers.
„ 2. Inoculation of a potato plant in the field, with a liquid bouillon culture.

BIBLIOGRAPHIE

1. AJREKAR, S. L. and RANADIVE, J. D., Agr. Res. Inst. Pusa, Bull. 148 (1923), 18.
2. BARTHOLOMEW, E. T., Centralbl. Bakt. II, 43 (1915), 609.
3. BENNETT, J. P. and BARTHELOMEW, E. T., Calif. Agr. Expt. Sta. Techn. Paper 14 (1924).
4. BIOURGE, PH., Agricultura 1930. Ann. Soc. Sc. Brux, B, 49 (1929), 68
5. BIOURGE, PH. et SOKAL, N., Agricultura, 1932.
6. BRAUN, H., Arb. Biol. Reichsanst. Dahlem, 19 (1932), 17.
7. DAVIS, W. P., Bot. Gaz., 81 (1926), 323.
8. HAEHN, H., Bioch. Zft. 100 (1919), 114. Zft. f. Spiritusindustrie, 43 (1920), 111.
9. MANN, H. H. and JOSHI, B. M., Bull. Dept. Agr. Bombay, 102 (1920), 112.
10. SOKAL, N., Compt. Rend. Soc. Biol., 103 (1930), 955.
11. STEWART, F. C. and MIX, A. J., N.-York Agr. Expt. Sta., Bull. 436 (1917).
12. SWELLENGREBEL, N. H., Arch. Néerl. Sc. Ext. et Nat., Ser. III, 13 (1907), 151.
13. VAN HALL, C. J. J., Centralbl. Bakt. II, 9 (1902), 642.
14. ZIEGENBEIN, E., Jahrb. f. Wiss. Bot. 25 (1893), 563.

[1]) Deze literatuurlijst is verre van volledig. Wij hebben slechts enkele der voornaamste studien over black-heart geciteerd; aldaar zal men ook volledigere gegevens aantreffen.

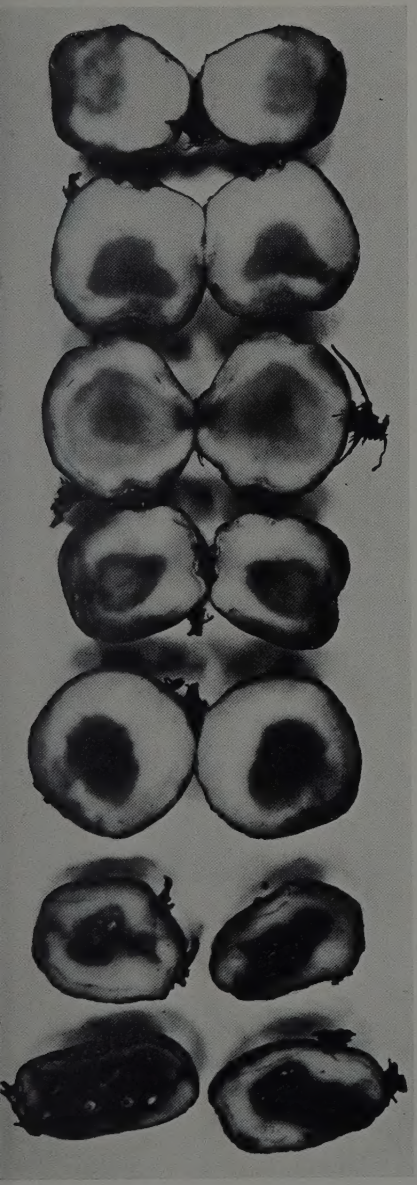

Fig. 1

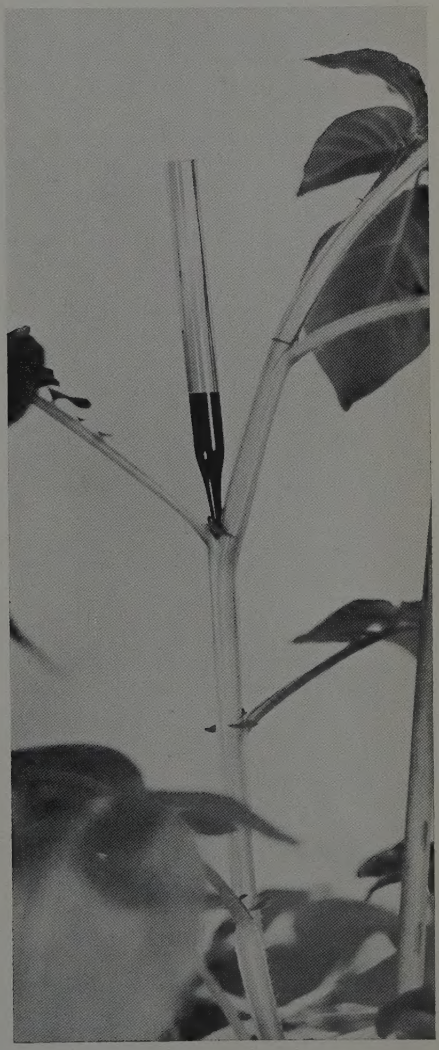

Fig. 2

EEN VIRUSZIEKTE IN LUPINEN

DOOR

DINA SPIERENBURG

Onder bovenstaanden titel komt in de derde aflevering van het Tijdschrift over Plantenziekten van dit jaar een artikel voor, waarin op een in 1935 waargenomen nieuwe ziekte in bittere en in zoete lupinen is gewezen.

In het artikel in het Tijdschrift is tot mijn spijt een vertaalfout blijven staan, die ik, om geen verdere verwarring te stichten, hier gaarne wil herstellen. Er staat nl., dat de lupinenziekte volgens de Australische onderzoekers overeen zou komen met *Boonen*mozaiek en niet met het zaad zou overgaan. Dit is onjuist, want zooals bekend is, gaat boonenmozaiek wel met het zaad over. Er had dan ook moeten staan *erwten*mozaiek, het Engelsche peamosaic, dat door mij foutief vertaald is met boonenmozaiek. Volgens de Australische onderzoekers hebben we bij de lupine te doen met een mozaiek, dat identiek zou zijn met erwtenmozaiek, welk mozaiek niet met het zaad overgaat. De Duitsche onderzoeker Köhler meent echter, dat het lupinenmozaiek overeenkomt met komkommervirus I, dat wel met het zaad overgaat.

In hoeverre de eene onderzoeker of de andere gelijk heeft, een vraag, die voor de praktijk, vooral met het oog op de zaadteelt van voederlupinen van zeer groot belang is, zal nader dienen te worden onderzocht.

Mijn bedoeling met het herstellen van de gemaakte vertaalfout is ook om te voorkomen, dat de foutieve meening zich zou vestigen, dat boonenmozaiek niet met het zaaizaad zou overgaan.

Op een buiten mijn schuld om gemaakte fout bij het in elkaar zetten der afbeeldingen is in een „errata" op blz. 116 in de vierde aflevering van dit jaar gewezen. Misschien is het goed hier tegelijk nog eens de veranderingen aan te geven:

De drie afbeeldingen van Plaat VI zijn verkeerd geplaatst. De linkerafbeelding, aangeduid met Fig. 1, moet zijn: Figuur 2 (zieke blauwe lupine); de middelste afbeelding, aangeduid met Fig. 2, moet zijn: Fig. 3 (zieke witte lupine); de rechter afbeelding aangeduid met Fig. 3, moet zijn: Fig. 1 (zieke gele lupine).

Tevens komt op blz. 71 een drukfout voor. Op den vijfden regel van onderen leze men: „Ziektebeeld der stengels" (Zie Plaat VII, fig. 5 (inplaats van fig. 4).

Ook dient bij de platen nog vermeld te worden: Foto's D. Lindner.

Van deze gelegenheid maak ik tegelijk gebruik nog iets over het optreden van de ziekte in dit jaar te vermelden.

Op het oogenblik, dus eind Augustus begin September, komt

in verschillende plaatsen de ziekte in zeer ernstige mate voor. Zelf hebben we ze op eenige perceelen in Wageningen en in Noord-Brabant gezien. We kregen nog van andere plaatsen, ook meer uit het Noorden van het land, berichten, al of niet met materiaal, dat de ziekte er was waargenomen.

Wij hooren vooral van het optreden van de ziekte in gele voederlupinen. Loopt men door een veld met zieke lupinen, dan treft men telkens vroeg afgestorven, geheel bruine planten aan. In de omgeving van deze doode planten staan vrij hooge planten, waarin de bloem meestal aanwezig is. De planten hebben echter opvallend kleine, fijn blijvende en wat licht gekleurde blaadjes in den top der stengels. De afzonderlijke blaadjes van het samengestelde blad zijn fijn, bijna draadvormig, spichtig, soms iets gekrinkeld en meermalen met bruine vlekjes of streepjes bezet. Het schijnt, dat de ziekte zich van de vroeg gestorven planten af verspreid heeft.

Op de door ons bezochte perceelen kregen we den indruk, dat de ziekte het sterkst optrad in de vroeg gezaaide lupinen. Later gezaaide perceelen waren nog mooi groen, maar toch zag men reeds de fijne blaadjes en het samenknijpen van de blaadjes in den top der planten, dus de eerste verschijnselen van de ziekte. Het zal de vraag zijn, of deze planten nog tot voldoende zaadvorming kunnen komen.

De ziekte komt zoowel in de voeder-, als in de bittere lupinen voor, maar eerstgenoemde schijnen vatbaarder te zijn, hoewel ook bij de voederlupinen nog verschillen in vatbaarheid zijn waargenomen.

Zoo b.v. leken het vorig jaar de bittere blauwe lupinen het sterkst vatbaar, de bittere witte iets minder, maar deze leken veel vatbaarder dan de bittere gele. Het ziektebeeld van de bittere blauwe lupinen wijkt sterk af van dat van de gele. Alle groene bladeren van de bittere blauwe lupinen krijgen nl. bij optreden van de ziekte een sterk paarsbruine tint. Bij de bittere witte lupine is de kop van de plant zeer kroezig, terwijl de onderste bladen slap hangen. Het is, gezien de verschillende ziektebeelden, zeker niet onmogelijk, dat we met meer dan één virus te maken hebben.

We hebben tot nu toe slechts een enkelen keer gehoord van het optreden van de ziekte in zoete blauwe lupinen. Het ziektebeeld daarvan is ons nog niet goed bekend.

Middelen ter bestrijding der ziekte(n) zijn thans nog niet aan te geven. Wellicht zal door selectie, waarbij vooral aandacht geschonken zal moeten worden aan voor de ziekte onvatbare stammen, veel bereikt kunnen worden.

Wageningen, September 1936.